

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren: Prof. Dr. H. J. Dengler
Prof. Dr. H. A. Kühn
Prof. Dr. H. G. Lasch

PROTEIN – SYNTHESE UND EXPERIMENTELLE FETTLLEBER DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Heide Frick
aus Freiburg/Breisgau

Gießen 1970

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren: Prof. Dr. H. J. Dengler
Prof. Dr. H. A. Kühn
Prof. Dr. H. G. Lasch

PROTEIN – SYNTHESE UND EXPERIMENTELLE FETTLER DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Heide Frick
aus Freiburg/Breisgau

Gießen 1970



Dekan:	Prof. Dr. H. Rettig
Referent:	Prof. Dr. H. A. Kühn
Correferent:	Prof. Dr. Dr. W. Boguth

Meinen Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. EINLEITUNG	3
II. MATERIAL	6
III. METHODEN	8
IV. ERGEBNISSE	18
A. Methodische Untersuchungen	18
B. Alkohol- und fettreiche, proteinfreie Diät	20
C. Glucose- und fettreiche, proteinfreie Diät	24
D. Orotsäure-Verfütterung	29
E. Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation	36
F. Thioacetamid-Intoxikation	40
G. Toxischer Leberschaden nach Äthionin	44
V. DISKUSSION	47
VI. ZUSAMMENFASSUNG	54
VII. LITERATUR	56
VIII. LEBENSLAUF	60

I. EINLEITUNG

Untersuchungen über die Proteinsynthese im Lebergewebe von Patienten mit akuter Hepatitis, florider chronischer Hepatitis, Lebercirrhose und Verschlukterus haben ergeben, daß bei diesen Erkrankungen im Leberpunktionszylinder in vitro eine erhöhte Proteinsynthese nachzuweisen ist. (12) Dieser Befund läßt sich ebenfalls im Tierversuch bei verschiedenen zur Cholestase führenden Vergiftungen der Ratte nachweisen. (13, 20)

Da sich bei der histologischen Untersuchung von menschlichem Lebergewebe zu den Zeichen z.B. einer floriden chronischen Hepatitis vor allem nach Behandlung mit Glucocorticoiden oft eine mehr oder minder ausgeprägte Leberzellverfettung findet, ist in der vorliegenden Arbeit geprüft worden, ob sich an der experimentell erzeugten Fettleber der Ratte Änderungen der Syntheseleistungen (Protein, NAD-, Cholesterinsynthese) der Rattenleber nachweisen lassen.

Diesen Untersuchungen liegt gleichzeitig die Arbeitshypothese zugrunde, daß die verfettete Leberzelle ebenso wie die glykogenreiche Leberzelle dem Modell einer ruhenden Zelle entsprechen könnte, im Gegensatz zu der aktivierten

Zelle bei Cholestase und Hepatitis, die eher durch Glykogenarmut und erhöhte Syntheseleistungen gekennzeichnet ist. (6,12)

Durch folgende Maßnahmen wurde versucht, eine Leberzellverfettung zu erzeugen :

1. alkohol- und fettreiche, proteinfreie Diät
2. glucose- und fettreiche, proteinfreie Diät
3. Orotsäure-Verfütterung
4. Tetrachlorkohlenstoffintoxikation.

Zusätzlich wurde geprüft, wie weit eine Intoxikation mit Äthionin oder Thioacetamid die oben erwähnten Syntheseleistungen in Rattenleberschnitten beeinflussen.

Gemessen wurden die Leberfunktionsproben AP, GPT, SLAP im Serum, der Neutralfettgehalt der Leber und die Protein-, NAD- und Cholesterinsynthese in Rattenleberschnitten entsprechend vorbehandelter Tiere in vitro.

Abkürzungen siehe folgende Seite.

Erläuterung der in der vorliegenden Arbeit
verwendeten Abkürzungen :

Anit	α -naphthyl-isothiocyanat
AP	alkalische Phosphatase
DNS	Desoxyribonukleinsäure
dpm	desintegrations per minute
EK	Endkonzentration
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
NAD	Nikotinsäureamid-adenin-dinukleotid
NSAD	Nikotinsäure-adenin-dinukleotid
RNS	Ribonukleinsäure
s.A.	spezifische Aktivität
SLAP	Serum-Leucin-Amino-Peptidase
UPM	Umdrehungen pro Minute

II MATERIAL

1. Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden männliche Albino-ratten vom Stamm Sprague-Dawley, mit einem Gewicht von 200 - 250 g von der Versuchstier-anstalt Hannover verwendet.

2. Ratten-Standarddiät und

3. Orotsäure- Spezialdiät (1 % Orotsäure),
Firma Altromin, Lage/Lippe.

4. Lipofundin (15 %), Firma Braun, Melsungen.

5. Tween 80 (Oleylsorbitan polyäthylenengly-
koläther), Firma Serva, Heidelberg.

6. L-Äthionin ($C_6H_{13}NO_2S$) und

7. Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4) und

8. Thioacetamid (CH_3CSNH_2), Firma Merck AG,
Darmstadt.

9. Radioaktive Substanzen :

14-C-L-Leucin (U)	(s.A. 10 mC/mMol)
14-C-2-Na-acetat	(s.A. 38 mC/mMol)
14-C-7-Nikotinsäure	(s.A. 27,9 mC/mMol)
3-H-5-Uridin	(s.A. 5000 mC/mMol) :

Firma Buchler & Co., Braunschweig.

10. Substanzen zur Bestimmung von Serumwerten :

Testsätze der Firma C.F. Boehringer & Soehne,
Mannheim.

Cholesterin	Testsatz Nr. 15949 TCAA
-------------	-------------------------

Glycerin und Neu-

tralfett	Testsatz Nr. 15989 TNAA
----------	-------------------------

GPT	Testsatz Nr. 15956 TGAK
-----	-------------------------

SLAP	Testsatz Nr. 15952 TLAF
------	-------------------------

11. Bestimmung der alkalischen Phosphatase :

mit dem kinetischen Test Nr. 3314 der Firma
Merck AG., Darmstadt.

12. Scintillatorsubstanzen : Firma Packard-
Instruments, Frankfurt.

III. METHODEN

A. Tierversuche

1. Alkohol- und fettreiche, proteinfreie Diät

Die Versuchstiere bekamen durchschnittlich 10 Tage lang oral ad libitum eine flüssige Diät, bestehend aus : 500 ml 10 % Lipofundin und 120 ml 96 % Äthanol.

Die Kontrolltiere erhielten Altromin-Standarddiät.

2. Glucose- und fettreiche, proteinfreie Diät

Die Versuchstiere erhielten durchschnittlich 27 Tage lang eine flüssige Diät ad libitum, bestehend aus:

150 g Olivenöl

75 g Glucose

30 g Tween 80

100 ml NaCl (0,9%)

aqua dest ad 1000 ml.

Die Kontrolltiere bekamen Altromin-Standarddiät.

3. Orotsäure

26 Tage wurden die Versuchstiere mit einer Altromin-Spezialdiät gefüttert, die zusätzlich

1 % Orotsäure enthielt.

Die Kontrolltiere erhielten Altromin-Standarddiät.

4. Tetrachlorkohlenstoff

Den Versuchstieren wurde einmalig 1 ml Tetrachlorkohlenstoff-Olivenölgemisch (1:1) pro 100 g Körpergewicht (= 8 g CCl_4 /kg) durch eine Schlundsonde verabreicht.

Nach 6 Stunden wurden die Tiere getötet.

Die Kontrolltiere erhielten reines Olivenöl.

5. Thioacetamid

Den Versuchstieren wurde einmalig 150 mg Thioacetamid pro kg Körpergewicht durch eine Schlundsonde gegeben.

Nach 12 Stunden wurden die Tiere getötet.

Die Kontrolltiere bekamen physiologische Kochsalzlösung.

6. Äthionin

1 g Äthionin wurde in 40 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Den Versuchstieren wurde einmalig 750 mg Äthionin pro kg Körpergewicht intraperitoneal appliziert. Nach 5 Stunden wurden die Tiere getötet.

Die Kontrollratten erhielten physiologische Kochsalzlösung intraperitoneal.

B. Herstellen der Leberschnitten

Die Versuchstiere wurden mit Äthyläther nar-
kotisiert. Durch Herzpunktion wurde etwa 8 ml
Blut gewonnen. Danach wurde die Leber entnom-
men. Mit einer Rasierklinge wurden von Hand
dünne Leberschnitten hergestellt und 50 mg $\pm$
10 mg Lebergewebe in Inkubationsgläschen einge-
wogen.

Danach wurden 2,0 ml eines Inkubationsgemisches
einpipettiert.

Die Gläschen wurden mit Carbogen begast und
unter Schütteln (Warburg-Apparatur) bei 37°C
inkubiert.

Nach einer Inkubationszeit von 60 Minuten wur-
den die Leberschnitten in eiskalter physiologi-
scher Kochsalzlösung gewaschen und bis zur Wei-
terbehandlung bei -18°C eingefroren.

C. Der Inkubationsansatz enthielt :

1 μ C 14-C-L-Leucin (U) (EK 5 $\times 10^{-5}$ M)

1 μ C 14-C-2-Na-acetat (EK 1,3 $\times 10^{-5}$ M)

0,5 μ C 14-C-7-Nikotinsäure (EK 8,6 $\times 10^{-6}$ M)

Glucose (EK 6,9 $\times 10^{-3}$ M)

in 2,0 ml Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer, pH 7,4.

Bei der Inkubation der Leberschnitten von den
Tieren, die mit Orotsäure-Futter ernährt worden

waren, enthielt der Ansatz zusätzlich
0,4 μ C 3-H-5-Uridin (EK 1×10^{-7} M).

D. Aufarbeiten der Leberschnitten

1. Cholesterin-Synthese

Als Maß für die Cholesterinsynthese wurde der Einbau von 14 -C-Acetat in die mit Digitonin fällbaren Lipide gewertet.

Auf das tiefgefrorene Lebergewebe wurde 0,2 ml Methanol gegeben und homogenisiert. Dazu wurden weitere 0,2 ml Methanol und 0,8 ml Chloroform gegeben.

Nach 10 Minuten Stehenlassen bei 0°C wurde 10 Minuten bei 5000 UPM zentrifugiert. (Als Zentrifuge wurde die Laborzentrifuge der Firma Christ verwendet.)

Der Überstand wurde quantitativ in neue Zentrifugengläschen gebracht und mit 0,024 N Perchlorsäure einmal gewaschen, um wasserlösliche Substanzen zu entfernen. (Diese werden unten als Fraktion II der NAD-Synthese weiterverarbeitet). Die so gewonnene Gesamtlipidfraktion wurde mit Äthanol ad 4,0 ml aufgefüllt.

Zu 2,0 ml davon wurden dann 1 mg Cholesterin (gelöst in 96% Äthanol) und 4,0 ml Digitonin-

lösung (0,5 % in 50 % Äthanol gegeben, die Gläschen verschlossen und über Nacht stehen gelassen, wobei sich ein weißlicher Niederschlag entwickelte.

Danach wurde 10 Minuten zentrifugiert und der Überstand verworfen. Der Rückstand wurde einmal mit Aceton - Äther (1:3) und einmal mit Äther gewaschen. Auf den trockenen Niederschlag wurde 1,0 ml Eisessig gegeben und aufgelöst. Zu 0,4 ml dieser Lösung wurden 15,0 ml Thix-Gel-Scintillator in einem Tri-Carb-Scintillationsgläschen zugesetzt und die Radioaktivität gemessen.

2. NAD-Synthese

Als Maß für die NAD-Synthese wurde der Einbau von 14-C-Nikotinsäure in die mit Aceton fällbaren Nukleotide NSAD und NAD gewertet. (2)

Fraktion I

Der Leberückstand aus der Lipid-Extraktion wurde mit 1,0 ml eiskalter Perchlorsäure (0,6 N) aufgeschwemmt und 10 Minuten im Eisbad stehen gelassen.

Danach wurde 10 Minuten zentrifugiert und der klare Überstand in andere Zentrifugengläser

gegeben. Der Rückstand wurde für andere Synthesen aufbewahrt.

Dem Überstand wurden 1,0 ml eines ATP-NAD-Gemisches (20 mg ATP, 20 mg NAD pro 1,0 ml Aqua dest.) und 8,0 ml Aceton (-18°C) zugesetzt. Mit einem Glasstab wurde an der Innenwand der Zentrifugengläser so lange gerieben, bis eine sichtbare Fällung eintrat. Die Gläser wurden 12 Stunden bei -18°C aufbewahrt.

Nach Zentrifugieren und Verwerfen des Überstandes wurde einmal mit Aceton und einmal mit Äther gewaschen. Der trockene Niederschlag wurde in 0,5 ml Aqua dest. gelöst.

Von dieser Lösung wurden 0,4 ml zusammen mit 10 ml Thix-Gel-Scintillator in ein Zählgläschen gegeben.

Fraktion II

Die aus dem Lipidextrakt gewonnenen wasserlöslichen Nukleotide wurden wie Fraktion I behandelt.

Bei der Aufstellung der Endergebnisse wurden die Werte von Fraktion I und Fraktion II zusammengefaßt.

3. RNS-Synthese

Bei den Orotsäure-Ratten wurde zusätzlich die RNS-Synthese bestimmt.

Als Maß für die RNS-Synthese wurde der Einbau von 3-H-5-Uridin in die bei 80°C durch Perchlorsäure extrahierbaren Nukleinsäuren gewertet.

Der Rückstand, der aus der NAD Fraktion I übriggeblieben war, wurde mit eiskalter Perchlorsäure (0,6 N) gewaschen, und anschließend die Nukleinsäuren mit 0,1 ml Perchlorsäure (0,6 N) eine Stunde bei 80°C extrahiert.

0,2 ml des Extraktes wurden zusammen mit 15,0 ml Thix-Gel-Scintillator in ein Zählgläschen gegeben.

4. Protein-Synthese

Als Maß für die Proteinsynthese wurde der Einbau von 14-C-Leucin in die Perchlorsäure-unlösliche Fraktion gewertet.

Der Rückstand nach Extraktion der Nukleotide und Nukleinsäuren wurde mit Äthanol und Äther je einmal gewaschen und getrocknet und danach in 0,5 ml konzentrierter Ameisensäure gelöst. 0,4 ml dieser Lösung wurden zusammen mit 10,0 ml Thix-Gel-Scintillator in Zählgläschen gegeben.

E. Radioaktivitätsmessung

Als Scintillatorgemisch wurde ein Thix-Gel-Scintillator, bestehend aus :

1800 ml Dioxan- 200 ml Äthanol- 252 g Naphthalin- 115 g Cab-O-Sil- 14 g 2,5-Diphenyloxazol- 350 mg 1,4-bis-2-G4-Methyl-5-Phenoxyloxzoly1-Benzol

verwandt.

Die Messung der Radioaktivität erfolgte im Tri-Carb-Liquid-Scintillation-Counter, Modell Nr.

3375 der Firma Packard, Frankfurt.

Die Quenchkorrektur wurde mit Hilfe des externen Standards vorgenommen.

F. Bestimmung des Neutralfettgehaltes der Rattenleber

Die Bestimmung erfolgte in Anlehnung an methodische Angaben von

1. Boehringer
2. Eggstein (4)
3. Thaler et al. (16)

Auf 1 g Lebergewebe wurden 50 ml eines Methanol-Chloroform-Gemisches (1:2) gegeben und mit einem Ultraturrax 6 x 10 Sekunden homogenisiert. Das Homogenat wurde 24 Stunden stehen gelassen

und dann filtriert.

Von dem klaren Filtrat wurden 10 ml mit 2 ml einer 0,04 % CaCl_2 -Lösung versetzt.

Nach weiteren 24 Stunden wurde der wässrige Überstand abgesaugt und verworfen. 1,0 ml des Lipidextraktes wurden mit 2,0 ml einer äthanolischen KOH (0,5 N) 30 Minuten bei 70°C erhitzt, danach wurde 0,5 ml einer 20 % Perchlorsäure dazugegeben. Nach 10 Minuten Abkühlung im Eisbad wurde zentrifugiert, der Überstand in ein Gläschen übertragen und mit 10 N Natronlauge neutralisiert. 0,1 ml der neutralen Lösung wurde in den optischen Test eingesetzt.

Auf eine Bestimmung der freien Glycerine wurde verzichtet, da vorherige methodische Untersuchungen gezeigt hatten, daß sich in dem so gewonnenen Lipidextrakt keine meßbaren Mengen freien Glycerins befinden.

G. Serumbestimmungen

Das durch Herzpunktion gewonnene Blut wurde 60 Minuten bei 4°C gekühlt, 10 Minuten bei 1500 UPM zentrifugiert und das Serum abgehoben.

Bestimmt wurden die AP, GPT, SLAP als kinetische Tests, das Gesamtcholesterin als Farbtest.

Für die Messungen wurde ein Eppendorf-Photometer der Firma Netheler und Hinz benutzt.

H. Signifikanzberechnung

Die Signifikanzen wurden nach dem t-Test berechnet.

J. Histologische Untersuchungen

Das Anfärben und Färben der histologischen Präparate erfolgte im histologischen Labor der Medizinischen Universitäts-Klinik Giessen.

Es wurden routinemäßig von jeder Versuchsgruppe 3 Färbungen angefertigt (H.E.; Fe; van Gieson.) Bei einem Teil der Versuchstiere wurde zusätzlich noch eine Scharlachrot-Färbung durchgeführt.

Für die Beurteilung der Präparate sind wir Herrn Dr.med.B. Leinweber zu großem Dank verpflichtet.

IV. ERGEBNISSE

A. Methodische Untersuchungen

Methodische Untersuchungen (13,20) zeigen:

1. Es besteht eine lineare Abhängigkeit der Protein- und NAD-Synthese vom eingesetzten Feuchtgewicht des Lebergewebes.

2. Eine lineare Abhängigkeit der Protein- und NAD-Synthese besteht von der Inkubationszeit.

3. Protein und die Nukleinsäuren werden überwiegend aus den eingesetzten Aminosäuren synthetisiert.

4. NAD wird nur aus der eingesetzten Nikotinsäure synthetisiert.

5. Alle Synthesen laufen nur dann ab, wenn Sauerstoff zugegen ist, oder wenn die Atmung und der Energiestoffwechsel intakt sind.

1. Narkotisieren der Tiere, Herzpunktion und Herausnahme der Leber;
2. Herstellen der Leberschnitten;
3. Wiegen des feuchten Lebergewebes;
4. Inkubation mit

1 μ C 14-C-L-Leucin (U)	(EK 5 x 10 ⁻⁵ M)
1 μ C 14-C-2-Na-azetat	(EK 1,3 x 10 ⁻⁵ M)
0,5 μ C 14-C-7-Nikotinsäure	(EK 8,6 x 10 ⁻⁶ M)
Glukose	(EK 6,9 x 10 ⁻³ M)

in 2,0 ml Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer, pH 7,4,
Temp. 37⁰ C, t = 60 Minuten, Atmosphäre; 5 % CO₂ / 95 % O₂
5. Einfrieren und Auftauen;
6. Lipidextraktion mit Methanol-Chloroform;
7. Nukleotidextraktion mit Perchlorsäure bei 0⁰ C;
8. Waschen und Trocknen des Proteinrestes;
9. Bestimmung der Serumwerte;

Tabelle 1

Zusammenfassung der angewandten Methodik

B. Untersuchungen bei alkohol- und fettreicher, proteinfreier Diät.

Zuerst wurde versucht, bei 10 Versuchstieren durch die Verfütterung einer alkohol- und fettreichen, proteinfreien Diät eine Fettleber zu erzeugen.

Dabei kommt es - wie aus Tab. 2 ersichtlich ist - zu einer deutlichen Gewichtsreduktion der Tiere und zu einer erheblichen Abnahme des Lebergewichtes gegenüber der Kontrolle.

Versuchsbedingungen	n	Gesamtgewicht in g	n	Lebergewicht in g	n	Neutralfett mg/g Leber
Kontrolle	10	245 ± 28	10	11 ± 2	28	23 ± 12
Lipofundin + Äthanol	10	172 ± 25	10	6 ± 0,7	10	35 ± 12
p		< 0,0005		< 0,0005		< 0,005

Tab. 2

Körpergewicht, Lebergewicht und Neutralfettgehalt der Leber von Ratten nach oraler Gabe von alkohol- und fettreicher, proteinfreier Diät verglichen mit einer Kontrollgruppe.

Klinisch kommen die Tiere in einen schlechten Allgemeinzustand, der durch ein stumpfes, struppiges Fell gekennzeichnet ist. Gleichzeitig ist der Stuhl der Tiere nicht mehr geformt. Diese Veränderungen müssen im wesentlichen auf die proteinfreie und flüssige Ernährung zurückgeführt werden.

Die Messung des Neutralfettgehaltes ergibt lediglich eine geringfügige, wenn auch signifikante Zunahme des Leberfettgehaltes. Als Erklärung für diesen nur geringen Anstieg des Fettgehaltes könnte eventuell der hohe Phospholipidgehalt des Lipofundins herangezogen werden.

Versuchsbedingungen	n	Proteinsynthese dpm/mg Feuchtgew.	Cholesterinsynthese dpm/mg Feuchtgew.	NAD-Synthese dpm/mg Feuchtgew.
Kontrolle	38	288 ± 175	62 ± 36	262 ± 200
Lipofundin + Athanol	38	106 ± 57	31 ± 13	98 ± 98
p		<0,0005	<0,0005	<0,0005

Tab. 3

Protein-, Cholesterin- und NAD-Synthese in Leberschnitten in vitro nach oraler Gabe einer alkohol- und fettreichen, proteinfreien Diät.

Die Messung der Syntheseleistungen in den Rattenleberschnitten in vitro (Tab.3) ergab eine eindeutig und signifikant verminderte Protein-, Cholesterin- und NAD-Synthese.

Wie die Abb. 1 und 2 zeigen, kommt es weder zentroacinär noch im Bereich der Periportalfelder zu pathologischen Veränderungen.



Abb. 1

Unauffälliges Läppchenzentrum nach Gabe einer alkohol- und fettreichen, proteinfreien Diät.

Sowohl die Leberzellen als auch die Kerne variieren nicht sehr in ihrer Größe, das Sternzellensystem ist unauffällig, Pigmente werden

weder in den Leber- noch in den Sternzellen angetroffen. Eine Leberzellverfettung ist auch mit spezieller Färbung (Scharlachrot) nirgends erkennbar.



Abb. 2

Unauffälliges Periportalfeld nach Gabe einer alkohol- und fettreichen, proteinfreien Diät.

C. Untersuchungen bei glucose- und fettreicher, proteinfreier Diät.

In einer zweiten Gruppe von Tieren wurde der Einfluß einer proteinfreien Kost, bestehend aus Olivenöl, Glucose, Tween 80 und physiologischer Kochsalzlösung untersucht.

Wie Tab. 4 zeigt, kommt es auch in diesem Versuch zu einer deutlichen und signifikanten Gewichtsreduktion, das Lebergewicht nimmt ebenfalls signifikant ab.

Versuchsbedingungen	n	Gesamtgewicht in g	n	Lebergewicht in g	n	Neutralfett mg/g Leber
Kontrolle	5	265 ± 28,7	5	10 ± 0,4	28	23 ± 12
Fettkost	6	172 ± 32	6	7 ± 0,6	5	91 ± 32
p		< 0,0005		< 0,0005		< 0,0005

Tab. 4

Körpergewicht, Lebergewicht und Neutralfettgehalt der Leber von Ratten nach oraler Gabe einer glucose- und fettreichen, proteinfreien Diät.

Die Tiere kommen klinisch in einen ähnlich reduzierten Zustand, wie bereits bei der ersten Diätform beschrieben.

Wie zu erwarten, steigt der Neutralfettgehalt der Leber signifikant an und ist deutlich höher als bei der vorausgegangenen Kostform. Dieses war zu erwarten, da der zweiten Kostform die Phospholipide fehlen.

Obwohl bei dieser Kostform die Syntheseleistungen der Leberzelle gegenüber dem Kontrollkollektiv signifikant vermindert ist (Tab. 5), finden sich dabei keine Zeichen einer Leberzellschädigung.

Versuchsbedingungen	n	Proteinsynthese	Cholesterinsynthese	NAD-Synthese
		dpm/mg Feuchtgewicht		
Kontrolle	6	251 ± 119	55 ± 33	349 ± 206
Fettkost	12	160 ± 61	21 ± 7	218 ± 61
p		< 0,025	< 0,0025	< 0,05

Tab. 5

Protein-, Cholesterin- und NAD-Synthese in Rattenlebern in vitro.

Sowohl die zentralen Läppchenabschnitte als auch die Periportalfelder sind normal, es gelingt auch mit einer Spezialfärbung nicht (Scharlachrot), Fett in den Leberzellen nachzuweisen. (Abb.3)

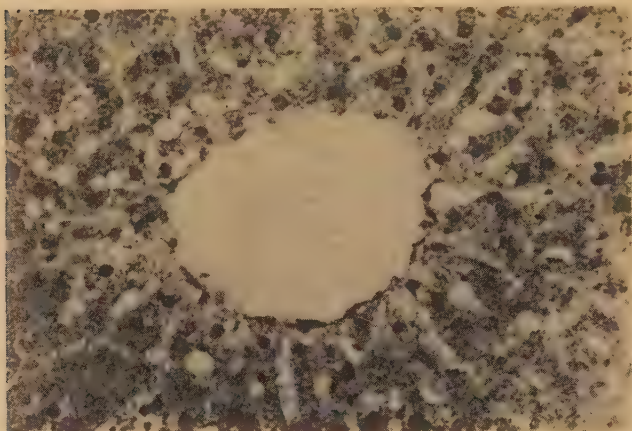


Abb.3

Unauffälliges Zentralgebiet nach Gabe einer glucose- und fettreichen, proteinfreien Diät.

Hervorgehoben werden muß auch hier, daß trotz 4-facher Steigerung des Neutralfettgehaltes sich histologisch keine Zeichen einer Leberzellverfettung nachweisen lassen. Dies könnte damit zusammenhängen, daß es bei der Ratte schwer gelingt - im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Menschen - eine großtropfige Leberzellverfettung zu erzeugen.

Bei der Fettleber der Ratte bleibt der Kern meist mittelständig, und die Verfettung ist kleintropfig.

Die Neutralfette sind anscheinend rasch mobilisierbar, da bereits nach 4 Tagen Umsetzen auf zusätzliche Normalkost der Fettgehalt der Leber sich wieder normalisiert hat. (Tab.6)

Versuchsbedingungen	n	Neutralfett mg/g Leber
Fettkost	5	91 ± 32
Fettkost + normales Futter	5	34 ± 14
p		< 0,005

Tab. 6

Neutralfettgehalt der Leber von Ratten bei verschiedener Kostform.

Zusammenfassend kann für die Ergebnisse der ersten beiden Untersuchungsprogramme festgehalten werden, daß es trotz extremer Ernährungsbedingungen bei der Ratte kaum gelingt, eine der menschlichen Fettleber vergleichbare Leberverfettung zu erzielen. Wie die gemessenen Syntheseleistungen zeigen, lassen sich durch diese Kost aber Veränderungen der Leberzellfunktion erreichen, die durch Abnahme der Syntheseleistungen in vitro gekennzeichnet sind.

Im Gegensatz dazu stehen die gesteigerten Syntheseleistungen der Leberzelle, wie sie sich bei der Anit-Cholestase der Ratte oder nach L₂yminal-Vorbehandlung finden. (5,13,20)

D. Untersuchungen bei Verfütterung von Orotsäure.

Nach Orotsäure-Verfütterung an Ratten kommt es - wie aus Tab. 7 ersichtlich - zu einem signifikanten Anstieg des Lebergewichtes von 10 auf 14,6 g, wobei das Körpergewicht der Versuchstiere sich nicht wesentlich unterscheidet.

Die Bestimmung des Neutralfettgehaltes bei den mit Orotsäure gefütterten Tieren ergab eine 10-fache Steigerung gegenüber dem Kontrollkollektiv. (Tab.7)

Versuchsbedingungen	n	Gesamtgewicht in g	n	Lebergewicht in g	n	Neutralfett mg/g Leber
Kontrolle	10	250 ± 6	10	10 ± 3	28	23 ± 12
Orotsäure 1%	5	233 ± 14	5	14,6 ± 0,5	5	221 ± 86
p				< 0,0025		< 0,0005

Tab. 7

Körpergewicht, Lebergewicht und Neutralfettgehalt von Rattenlebern nach Orotsäure-Verfütterung.

Diese Steigerung des Neutralfettgehaltes kann sowohl makroskopisch (Abb.4) als auch mikroskopisch (Abb. 5, 6) nachgewiesen werden.



Abb. 4

Rechts verfettete Rattenleber nach Gabe von Crotsäure, links normale Rattenleber.

Man erkennt rechts auf Abb. 4 gegenüber links eine helle, gelbliche Leber, die histologisch ihre Erklärung in einer ausgedehnten, vorwiegend zentralen Verfettung (Abb. 5) findet. Eine stärkere Vergrößerung zeigt die vorwiegend kleintropfige Verfettung der Leberzellen der zentralen Läppchenzone, wobei die Leberzellkerne mittelständig bleiben. (Abb. 6)

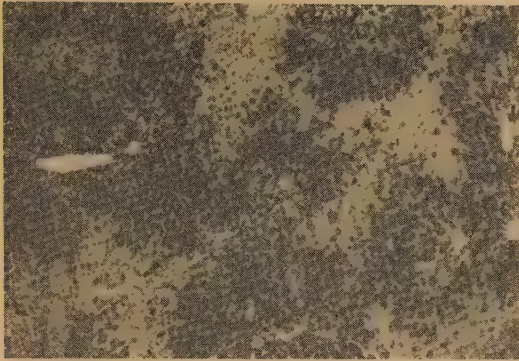


Abb. 5

Läppchenzentrale Leberzellverfettung, Nachweis
durch Scharlachrot. (Orotsäure)

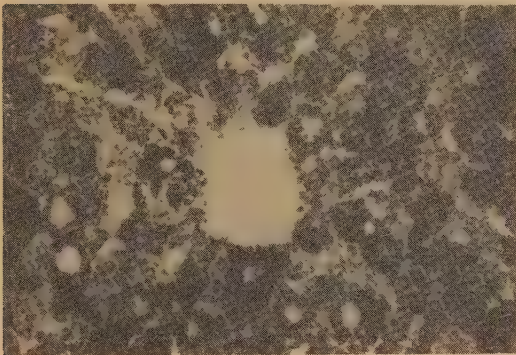


Abb. 6

Läppchenzentrale feintropfige Verfettung bei
stärkerer Vergrößerung. (Orotsäure)

Im Schwarzweißfoto imponieren diese mit Fett vollgestopften Zellen als Ballonzellen, der Kern ist durch die feintropfige Verfettung nicht zur Peripherie gedrängt. (Abb. 7)

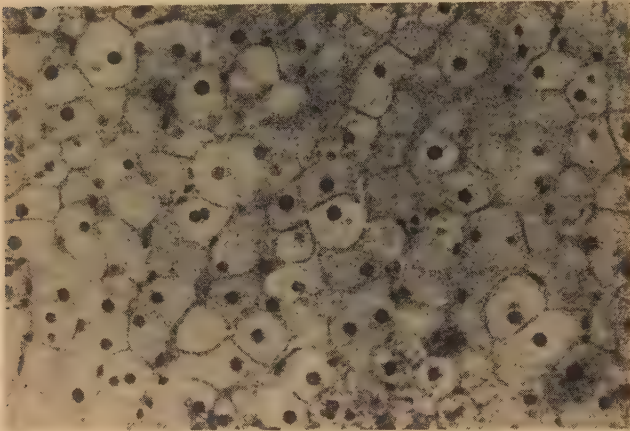


Abb. 7

Durch Anhäufung von Fett ballonisierte Leberzellen mit mittelständigen Kernen. (Orotsäure)

Die Leberzellen nehmen den Charakter von Pflanzenzellen an mit Betonung der Zellmembran. An verschiedenen Stellen kommt es zur Sternzellreaktion. Perlschnurartig proliferierte Sternzellen sind in Abb.8 erkennbar.

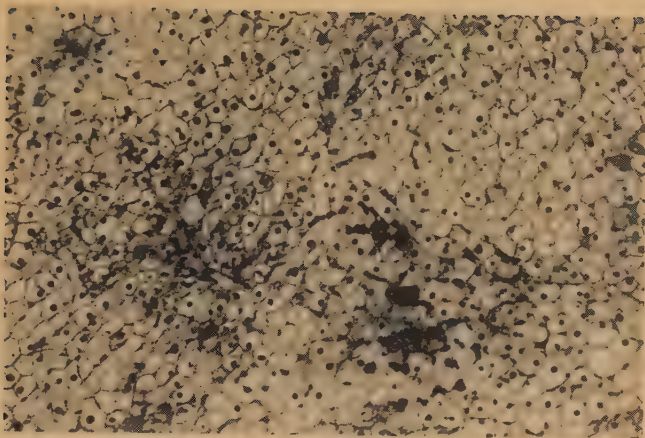


Abb. 8

Sternzellreaktionen. (Orotsäure)



Abb. 9

Mit Scharlachrot gefärbtes Kontrollpräparat.

Unauffälliges Zentralgebiet.

Das mit Scharlachrot gefärbte Kontrollpräparat läßt keine Verfettung im Gebiet der Zentralvene erkennen.

Die Tiere sind in gutem Allgemeinzustand. Trotz dieser sehr erheblichen Leberzellverfettung nach Orotsäure-Verfütterung ist die Proteinsynthese völlig normal. (Tab. 8)

Versuchsbedingungen	n	Proteinsynthese dpm/mg Feuchtgew.	Cholesterinsynthese dpm/mg Feuchtgew.	NAD- Synthese dpm/mg Feuchtgew.	RNS-Synthese dpm/mg Feuchtgew.
Kontrolle	6	200 ± 96	171 ± 7	179 ± 27	245 ± 46
Orotsäure 1 %	10	195 ± 48	56 ± 19	135 ± 45	67 ± 13
p		> 0,40	< 0,005	< 0,025	< 0,0005

Tab. 8

Protein-, Cholesterin-, NAD- und RNS-Synthese in Leberschnitten nach Orotsäure-Verfütterung.

Deutlich vermindert ist die Cholesterinsynthese (Tab. 8). Der erheblich verminderte Einbau von 3-H-5-Uridin in die RNS-Fraktion der

Leberschnitten bei den mit Orotsäure vorbehandelten Tieren darf nicht ohne weiteres auf eine verminderte RNS-Synthese zurückgeführt werden, da erwartet werden kann, daß es nach Orotsäureverfütterung zu einem Anstieg der Pyrimidinnukleotide und somit zu einem Isotopenverdünnungseffekt kommt.

Die Messung der NAD-Synthese ergibt nur eine geringe Veränderung gegenüber der Kontrolle. Spätere Untersuchungen in unserem Labor haben gezeigt, daß die Leberfunktionsproben unverändert sind. (5)

E. Untersuchungen bei der Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation.

Nach Verfütterung von 8 g /kg Körpergewicht CCl_4 in einmaliger oraler Dosis kommt es zu einem deutlichen Anstieg der AP und GPT im Serum und zu einem Anstieg des Neutralfettgehaltes in der Leber der untersuchten Tiere auf etwa das Doppelte (Tab. 9). SLAP und Gesamtcholesterin im Serum bleiben unverändert.

Versuchsbedingungen	n	GPT mU/ml	n	SLAP mU/ml	n	AP mU/ml	n	Gesamt- cholesterin mg%	n	Neutralfett mg/g Leber
Kontrolle	18	19 ± 8	16	18 ± 7	18	257 ± 111	16	72 ± 16	28	23 ± 12
CCl_4	4	431 ± 273	4	24 ± 8	4	520 ± 258	4	77 ± 13	5	43 ± 7
p		<0,0005		>0,10		<0,0025		>0,25		<0,0005

Tab. 9

Einfluß von Tetrachlorkohlenstoff auf Leberfunktionsproben und Neutralfettgehalt in der Rattenleber.

Histologisch ist die nach Tetrachlorkohlenstoff auftretende Leberzellverfettung durch eine feintropfige, periphere Verfettung gekennzeichnet. (Abb. 10)

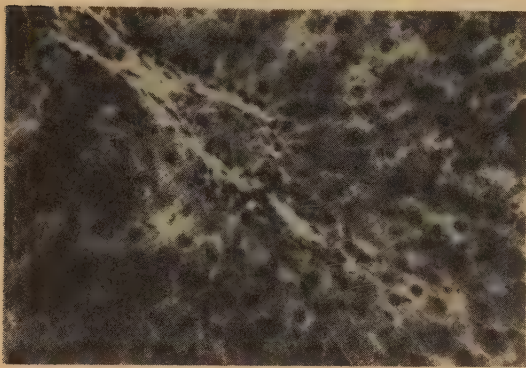


Abb. 10

Unauffälliges Periportalfeld mit deutlicher peripherer kleintropfiger Verfettung (Schmalblau) nach Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation.

Im Gebiet der Zentralvene ist die Verfettung kaum ausgebildet (Abb. 11), die auf Grund der erhöhten GPT und AP (Tab. 9) vermuteten Leberzellnekrosen sind histologisch nicht nachweisbar, das Sternzellsystem ist unauffällig ,

gespeicherte Pigmente sind nicht zu erkennen. (Abb. 11)

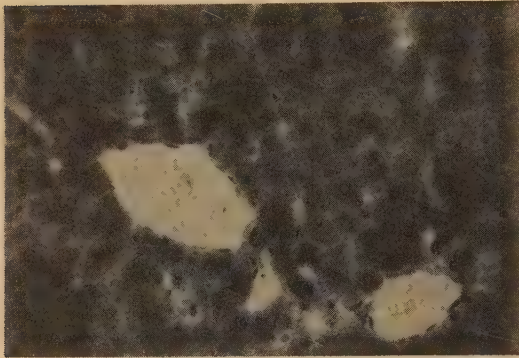


Abb. 11

Zentrale Läppchenzone mit kaum nachweisbarer Lebereinzellverfettung (Scharlachrot) nach Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation.

Bezüglich der in den Leberschnitten der mit Tetrachlorkohlenstoff behandelten Tiere gemessenen Syntheseleistungen bei dieser toxischen Fettleber läßt sich eine Verminderung der Protein- und NAD-Synthese auf etwa 50 % der Kontrolle nachweisen, während die Cholesterinsynthese nahezu unverändert erscheint. (Tab. 10)

Versuchs- bedingungen	Proteinsynthese	Cholesterinsynthese	NAD-Synthese
	% der Kontrolle		
6 Std. nach 4g/kg Tetra- chlorkohlen- stoff	47	72	24
6 Std. nach 8g/kg Tetra- chlorkohlen- stoff	69	99	52

Tab. 10

Protein-, Cholesterin- und NAD-Synthese in
Rattenleberschnitten in vitro nach Tetrachlor-
kohlenstoff-Intoxikation.

F. Untersuchungen über die Thioacetamid-Intoxi-
kation bei der Ratte.

Die einmalige Gabe von 150 mg Thioacetamid/kg Körpergewicht, die nach Angaben der Literatur (1) zu einer Fettleber führt, zeigt nach 21 Stunden weder biochemisch (Tab. 11) noch histologisch (Abb. 12) eine Vermehrung des Neutralfettgehaltes der Leber.

Versuchs- bedingungen	n	Protein- synthese dpm/mg Feuchtgew.	n	Neutralfett mg/g Leber
Kontrolle	6	740 ± 151	28	23 ± 12
21 Std. nach 150mg/kg Thioacetamid	9	1187 ± 144	9	30 ± 21
p		<0,0005		> 0,10

Tab. 11

Neutralfettgehalt und Proteinsynthese der
Rattenleber nach oraler Gabe von Thioacetamid.

Es lassen sich dagegen läppchenzentral gelegene Leberzellnekrosen vom acidophilen Typ mit entzündlicher Infiltration in den Nekrosebereich hinein nachweisen. (Abb. 12)

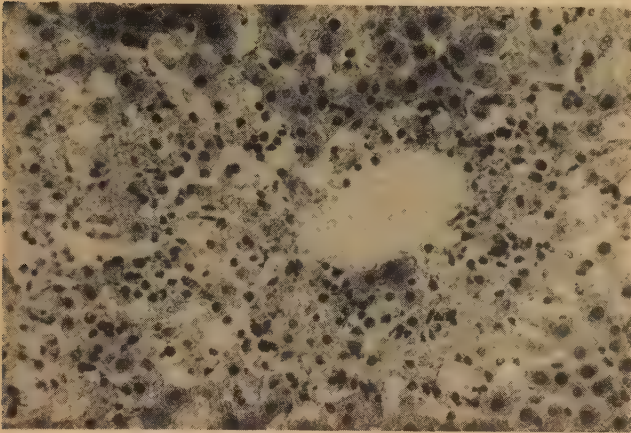


Abb. 12

Läppchenzentrale Leberzellnekrosen bei Thioacetamid-Intoxikation.

Neben gelapptkernigen Leukozyten erkennt man Rundzellen. Trotz dieser im Zentralgebiet liegenden Leberzellschäden ist das Sternzellensystem nur mäßig aktiviert. Die Periportalfelder sind nicht entzündlich infiltriert, sie weisen lediglich eine geringfügige fibröse Verbreiterung auf.

Das Kontrollpräparat (Abb. 13) zeigt ein unauffälliges Zentralvenengebiet.

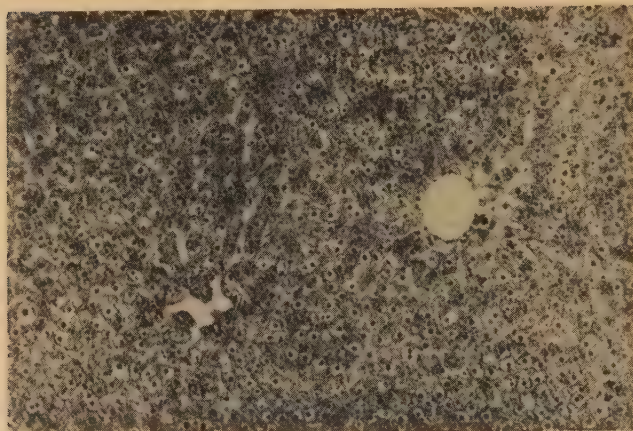


Abb. 13

Unauffälliges Zentralvenengebiet bei der Kontrolle.

Die histologisch nachweisbaren Schäden entsprechen den im Serum auftretenden Veränderungen, in dem es zu deutlichem Anstieg der AP, GPT und SLAP kommt. (Tab. 12)

Diese Form der toxischen Leberschädigung führt zu einer mäßigen, aber signifikanten Steigerung der Proteinsynthese in den Rattenleberschnitten in vitro. (Tab. 11)

Versuchs- bedingungen	n	GPT mU/ml	n	SLAP mU/ml	n	AP mU/ml	n	Gesamtcholesterin mg%
Kontrolle	18	19 ± 8	16	18 ± 7	18	257 ± 111	16	72 ± 13
21 Std. nach 150mg/kg Thioacetamid	8	508 ± 190	8	45 ± 16	7	513 ± 299	4	78 ± 3
p		< 0,0005		< 0,0005		< 0,005		> 0,15

Tab. 12

Einfluß von Thioacetamid auf Leberfunktions-
proben und Gesamtcholesterin der Ratte.

G. Untersuchungen über den toxischen Leberschaden nach Äthionin.

Die einmalige Gabe von Äthionin, die ebenfalls nach Angaben der Literatur (7, 19) zu einer Leberzellverfettung führen soll, führt bei der von uns gewählten Versuchsanordnung weder chemisch (Tab. 13) noch histologisch zu einer Neutralfettvermehrung in den Leberzellen.

Versuchsbedingungen	n	Protein-Synthese dpm/mg Feuchtgew.	n	Neutralfett mg/g Leber
Kontrolle	6	282 ± 171	28	23 ± 12
Äthionin 750mg/kg 5 Std	9	401 ± 83	7	24 ± 13
p		<0,05		>0,45

Tab. 13

Proteinsynthese und Neutralfettgehalt in Rattenleberschnitten in vitro nach intraperitonealer Gabe von Äthionin.

Histologisch finden sich weder im Periportal-
feld noch in den zentralen Läppchenabschnitten
Unterschiede zu dem Kontrollpräparat. Hin und
wieder erkennt man diskret verstreute acido-
phile Zellnekrosen mit geringer Sternzellreak-
tion und vereinzelte Kernvakuolen in Leberzell-
kernen. (Abb. 14)

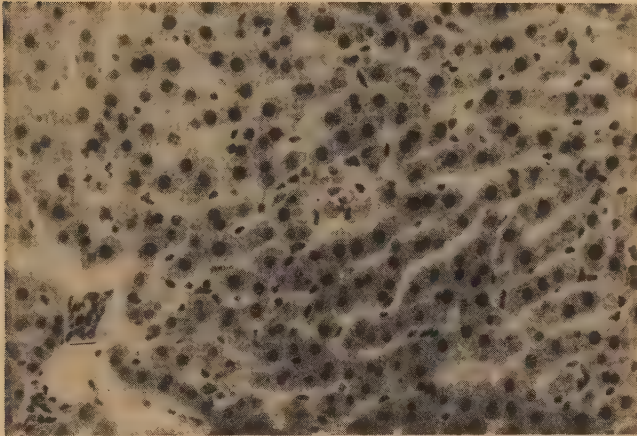


Abb. 14

Vereinzelte Leberzellnekrosen nach Äthionin-
Intoxikation der Ratte.

Dem sehr diskreten histologischen Befund entsprechen die normalen Leberfunktionsproben. (Tab. 14), die nach Äthioninapplikation gemessen werden. Dennoch führt auch diese Form der toxischen Leberschädigung zu einer mäßigen, aber signifikanten Steigerung der Proteinsynthese *in vitro*. (Tab. 13).

Versuchsbedingungen	n	GFT mU/ml	n	SLAP mU/ml	n	AP mU/ml	n	Gesamtcholesterin mg%
Kontrolle	18	19 ± 8	16	18 ± 7	18	257 ± 112	16	72 ± 13
Äthionin 750mg/kg 5 Std	5	18 ± 10	5	21 ± 2	5	162 ± 41	4	95 ± 26
p		>0,40		>0,2		<0,05		<0,01

Tab. 14

Leberfunktionsproben und Gesamtcholesterin
nach Äthionin-Intoxikation der Ratte.

V. DISKUSSION

Fasst man die wesentlichen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zusammen, so ergibt sich, daß weder durch proteinfreie, hauptsächlich Alkohol und Fett enthaltende Diät (Tab. 2, 3; Abb.2) noch durch eine proteinfreie, Fett und Kohlehydrat enthaltende Diät (Tab. 4, 5, 6; Abb.3) eine histologisch nachweisbare, der menschlichen Fettleber entsprechende Leberzellverfettung zu erreichen ist. Chemisch läßt sich zwar durch diese Diätform eine Steigerung des Neutralfettgehaltes auf das Zwei- bis Dreifache erzielen, doch reicht das nicht annähernd an die Steigerung des Neutralfettgehaltes bei der menschlichen Fettleber heran, bei der chemisch mit der gleichen Methode ein Anstieg des Neutralfettgehaltes auf etwa das 4ehnfache gefunden werden kann (16).

Der histologische Nachweis des Neutralfettes ist in der Rattenleber auch insofern problematisch, als es im Gegensatz zur vorwiegend großtropfigen Leberzellverfettung beim Menschen (18) bei der Ratte zu einer diffusen feintropfigen Verfettung kommt, bei der der Zellkern mittelständig bleibt.

Wie zu erwarten, nimmt das Lebergewicht der

mit diesen Diäten behandelten Tiere stark ab (Tab. 2,4), und es kommt, wohl als Ausdruck der verminderten Zelleistung, unter dieser extrem unphysiologischen Ernährung zu einer erheblichen Verminderung aller gemessenen Syntheseleistungen in vitro. Dabei bleibt der histologische Befund noch unauffällig, wie dies auch von anderen Leberschädigungen (z.B. Luminal) bekannt ist (9).

Diese Befunde sind insofern interessant, als es damit zumindest im Tierversuch gelingen könnte, durch diätetische Maßnahmen pathologisch gesteigerte Syntheseleistungen - wie sie z.B. bei der Anit-Cholestase der Ratte beobachtet werden können - therapeutisch zu beeinflussen (5, 20).

Dagegen führt die chronische Verfütterung von 1 % Orotsäure enthaltender, sonst normal zusammengesetzter Rattenkost zu einer ganz erheblichen Vermehrung des Neutralfettgehaltes (Tab. 7; Abb. 5, 6, 7). Diese Form der Fettleber an der Ratte ist bereits mehrfach beschrieben worden (14, 19).

Von Levy (19) wird als Ursache dieser Verfettung eine Verminderung der β -Lipoprotein-

Synthese diskutiert. Die genannten Autoren bestätigen in ihren Untersuchungen das Ausmaß der von uns gefundenen Neutralfettvermehrung in der Leber. Gleichzeitig zeigen diese Autoren, daß es zu einer Hemmung der Cholesterinabgabe aus der Leber kommt. Damit dürfte die deutlich erniedrigte Cholesterinsynthese, die bei der durch Orotsäure induzierten Fettleber gemessen wurde (Tab.8) ihre Erklärung finden, da es bekannt ist, daß Cholesterin auf dem Wege eines Rückkopplungsmechanismus seine eigene Synthese hemmt, wie Versuche nach Cholesterinverfütterung zeigen. (15) Diese schwere Leberzellverfettung führt weder zu einer wesentlichen Einschränkung der Protein- und NAD-Synthese der Leber in vitro, noch werden die Tiere in ihrer Entwicklung beeinträchtigt.

Die gemessene Verminderung der RNS-Synthese dürfte - wie bereits erwähnt - auf einem Isotopenverdünnungseffekt beruhen.

Besonders interessant ist, daß nach vorliegenden Befunden von Sickinger (14) und vorläufigen Untersuchungen von Hohmann (6) die Gabe von Orotsäure neben dem Anstieg des Neutralfettgehaltes auch zu einem Anstieg des Leberglykogengehaltes führt. Damit entsprechen diese

Zellen ruhenden oder stoffwechsellinaktiven Leberzellen, wobei die "angeregte" Zelle, wie sie vor allem bei ikterischen Erkrankungen des Menschen und z.B. bei der Anit-Cholestase der Ratte beobachtet werden kann, durch Glykogenarmut und deutlich erhöhte Syntheseleistungen gekennzeichnet ist. (6). Dabei kann nach vorläufigen Untersuchungen von Hohmann (6) auch die massive Orotsäure-Fettleber nicht den nach Anit-Gabe einsetzenden Anstieg der Proteinsynthese verhindern. Es kommt jedoch auch bei Fortsetzung der Orotsäure-Diät unter Anit zu einer erheblichen Verminderung des Glykogen- und Neutralfettgehaltes der Leber.

Die geringfügige toxische Leberzellverfettung nach ^TTetrachlorkohlenstoff-Applikation, die bei entsprechender Exposition (Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation) auch beim Menschen beobachtet werden kann und die nach Untersuchungen von Maling (8) und Recknagel (10) durch eine verminderte Triglyceridfreisetzung hervorgerufen wird, führt zu einer Erniedrigung der Protein- und NAD-Synthese auf etwa 50 % der Kontrollwerte (Tab. 10).

Ähnliche Veränderungen wurden von Judah (7)

und Windmueller (19) beobachtet. Diese Erniedrigung der Proteinsynthese kann nicht auf die vermehrte Neutralfetteinlagerung zurückgeführt werden, da gleichzeitig von anderen Autoren neben der Neutralfettvermehrung erhebliche Veränderungen an den Mitochondrien und Mitosestörungen beobachtet worden sind. (3, 7). Sie ist offensichtlich Folge der Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation selbst.

Die Vergiftung mit Thioacetamid führt zu einer toxischen Leberschädigung, die klinisch durch Anstieg der AP, GPT und SLAP (Tab.12) und histologisch durch läppchenzentrale Nekrosen (Abb. 12) gekennzeichnet ist. Diese Befunde sind in der Literatur bekannt. (7). Chronische Verabfolgung von Thioacetamid führt zu einer vom Läppchenzentrum ausgehenden Cirrhose. (17) Eine Neutralfetteinlagerung läßt sich weder chemisch noch histologisch nachweisen.

In Übereinstimmung mit Asworth (1) wurde eine Erhöhung des 14-C-Leucin-Einbaus gefunden.

Die nach Äthionin-Gabe auftretende toxische Leberschädigung ist histologisch durch diskret verstreute acidophile Zellnekrosen mit geringer Sternzellreaktion gekennzeichnet. Sie führt

zwar zu keinen wesentlichen Serumveränderungen, zeigt aber ebenfalls - wie bei der Thioacetamid-Intoxikation - und, allerdings nicht so stark wie bei der Anit-Cholestase der Ratte, einen vermehrten Einbau von 14-C-Leucin in das Leberprotein. Eine Neutralfettvermehrung läßt sich weder histologisch noch biochemisch nachweisen (Abb. 14 ; Tab. 13).

Diese Befunde stehen im Gegensatz zu Befunden von Judah (7) und Windmueller (19), die eher eine Verminderung der Proteinsynthese nach Äthionin gefunden haben.

Vorerst steht uns für diese unterschiedlichen Befunde nach Äthionin-Intoxikation keine einleuchtende Erklärung zur Verfügung.

Bei Patienten mit erheblichem Ikterus und erheblicher entzündlicher Reaktion des Lebergewebes (akute Hepatitis) (12) sowie auch bei Patienten mit einer Mitreaktion der Leber im Sinne einer unspezifischen mesenchymalen Reaktion mit nur geringen Leberzelluntergängen wurde eine gesteigerte Proteinsynthese in vitro gemessen. Das legt die Vermutung nahe, daß die Leberzellen auch unter Äthionin - ähnlich wie bei der Anit- und Thioacetamid-Intoxikation -

zu einer gesteigerten Proteinsynthese befähigt sind. (12)

Abschließend sei zusammengefaßt : In den Versuchen, die entweder diätetisch (Tab. 2, 4) oder nach Tetrachlorkohlenstoff (Tab. 9) zu einer mäßigen Neutralfettvermehrung führen, ist eine Verminderung der Proteinsynthese nachweisbar. Diese Verminderung der Proteinsynthese darf aber nicht auf den erhöhten Neutralfettgehalt als eigentliche Ursache bezogen werden, da die massive Neutralfettvermehrung, die nach Orotsäure-Gabe zu erreichen ist, zu keiner Verminderung der Syntheseleistungen führt, und sich für die Einschränkung der Syntheseleistungen sowohl bei proteinfreier Diät als auch bei der Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation einleuchtendere Erklärungen finden lassen.

In den hier vorgelegten Untersuchungen führt die Thioacetamid- und Äthionin-Applikation zu keiner Neutralfettvermehrung, die Syntheseleistungen sind erhöht.

Möglicherweise führen diese beiden Substanzen zu Leberzellveränderungen, die ähnlich wie bei der akuten Hepatitis und bei der Cholestase des Menschen und des Tieres, gesteigerte Proteinsyntheseleistungen bedingen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der Frage, ob sich an der experimentell erzeugten Fettleber der Ratte Änderungen der Syntheseleistungen (Protein-, NAD-, Cholesterinsynthese) in der Rattenleber in vitro nachweisen lassen.

Die Synthesen wurden durch Einbau von 14-C-markierten Vorstufen gemessen. Als Maß für die Proteinsynthese diente der Einbau von 14-C-Leucin, für die Cholesterinsynthese der Einbau von 14-C-Acetat, für die NAD-Synthese der Einbau von 14-C-Nikotinsäure in den entsprechenden Zellfraktionen.

Im Serum wurde bei einem Teil der Tiere die AP, GPT, SLAP und Gesamtcholesterin bestimmt.

Ergebnisse:

1. Eine alkohol- und fettreiche, proteinfreie Diät, sowie eine glucose- und fettreiche, proteinfreie Diät führen zu einer mäßigen Neutralfettvermehrung in der Leber der untersuchten Tiere. Die gemessenen Syntheseleistungen sind unter diesen Bedingungen in den Leberschnitten in vitro deutlich vermindert.

2. Die Verfütterung von Orotsäure führt zu einer deutlichen Erhöhung des Neutralfettgehaltes der Leber, wobei die Proteinsynthese unverändert bleibt.

3. Bei der Tetrachlorkohlenstoff-Intoxikation kommt es zu einer Erhöhung der Serum-Enzyme (AP, GPT, SLAP), zu einer mäßigen Erhöhung des Neutralfettgehaltes der Leber. In den Leberschnitten der mit Tetrachlorkohlenstoff behandelten Versuchstiere wurden verminderte Syntheseleistungen gemessen.

4. Die Thioacetamid- und Äthionin-Intoxikation führt in der von uns gewählten Versuchsanordnung zu keiner Neutralfettvermehrung in der Rattenleber. In den Leberschnitten der mit diesen Substanzen behandelten Versuchstiere läßt sich eine erhöhte Proteinsynthese nachweisen.

Die Ergebnisse werden diskutiert.

VII. LITERATUR

- (1) ASWORTH, C.T., D.J.Werner: Spectrum of fine structural changes in hepatocellular injury due to thioacetamide.
Amer. J. Path. 47, 917-51 (1965)
- (2) BRACHTEL, D.: Einfluß von Glucose und Ammoniumsulfat auf energieliefernde Prozesse und Syntheseleistungen von Ehrlich-Ascites-Tumorzellen in vitro.
Dissertation Med.Fakultät der Universität Giessen (1967).
- (3) CAIN, H.: Über die Fettleber aus morphologischer Sicht.
Fettleber, Internationales Symposium in Erlangen 1967.
- (4) EGGSTEIN, M., F.H.Kreutz : Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe.
Klin.Wschr.44, 262, (1966)
- (5) GRÜN, M.: Über Einfluß der Proteinsynthese in der Leber auf die Entwicklung des cholestatischen Ikterus unter Anit.
Inaugural Dissertation Giessen 1969 in Vorbereitung.

- (6) HOHMANN, J.: Glykogengehalt der Leber
bei der experimentellen intrahepatischen
Cholestase der Ratte.
Inaugural Dissertation Giessen 1969 in
Vorbereitung.

- (7) JUDAH, J.D., K. Ahmed, A.E. Mc Lean et al.:
Pathogenesis of cell necrosis.
Fed. Proc. 24, 1217-1221, (1965)

- (8) MALING, H.M., M. Wakabayashi and M.G.
Horning: Alterations in hepatic lipid
biosynthetic pathways after Etanol,
ethionine and carbon tetrachloride.
Advanc. Enz. Regul. 1, 247-257, (1963)

- (9) POPPER, H.: Panel discussion on drug injury.
V. International Meeting of the Interna-
tional Association for the Study of the
Liver. Prag 1968

- (10) RECKNAGEL, R.O., B.Lombardi, M.C.Scholz:
A new insight into Pathogenesis of Carbon-
Tetrachloride fat infiltration.
Proc. Soc. Exp., 104, 608-610, (1960)

- (11) RICHTER, E.: Protein Synthesis in needle biopsies of patients suffering from acute hepatitis.
IIIrd Meeting of the European Association for the Study of the Liver. Modena (1968)
- (12) RICHTER, E., S. Clauditz, B. Leinweber, H.A. Kühn : Erhöhte Protein-Synthese in Leberpunktaten von Patienten mit akuter Hepatitis.
Act. Hepatosplen. 15, 376, (1968)
- (13) SCHNEIDER, M.: Untersuchungen zur Proteinsynthese der Leber bei der experimentellen intrahepatischen Cholestase der Ratte.
Inaugural Dissertation Giessen 1969 in Vorbereitung.
- (14) SICKINGER, K., R. Kattermann, H. Hannemann : Zunahme von Lebergewicht und Leberglykogen unter Infusion von Cholinorotrat und Adenosin.
Act. Hepatosplen. 14, 88-99 (1967)
- (15) SIPERSTEIN, M.D., V.M. Fagan : Feedback Control of Mevalonate Synthesis by Dietary Cholesterol.
J. Biol. Chem, 241, 602-609 (1966)

- (16) THALER, H., A. Beringer, I. Hrabal,
K. Irsigler : Der Einfluß von Tolbutamid
auf die diabetische Fettleber.
Dtsch. med. Wschr. 52, 2388-2392 (1967)
- (17) THOENES, W. und P. Bannasch : Elektronen-
und lichtmikroskopische Untersuchungen am
Cytoplasma der Leberzellen nach akuter
und chronischer Thioacetamid-Vergiftung.
Virchows Arch. path. Anat. 335, 556-583
(1962)
- (18) WEPLER, W., E. Wildhirt : Klinische
Histopathologie der Leber, Ein Atlas.
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1968)
- (19) WINDMUELLER, H.G., R.I. Levy : Total
Inhibition of Hepatic β -Lipoprotein
Production in the Rat by Orotic Acid.
J.Biol. Chem. 242, 2246-2254 (1967)
- (20) WINTER, E.: Untersuchungen zur Protein-
synthese der Leber bei der Anit-Cholesta-
se der Ratte.
Inaugural Dissertation Giessen 1969 in
Vorbereitung.

VIII. LEBENS LAUF

Am 17. Juni 1944 wurde ich in Freiburg/Breisgau geboren. Die Einschulung erfolgte 1950 in Bad Nauheim. Nach neunjährigem Besuch der St. Lioba-Schule in Bad Nauheim schloß ich 1963 die Schulausbildung mit der Reifeprüfung ab.

Die Immatrikulation an der Justus Liebig-Universität erfolgte im April 1963 mit dem Studienfach Medizin. Die ärztliche Vorprüfung legte ich im Juli 1966 ab und habe das Studium am 26.01.70 mit der ärztlichen Prüfung abgeschlossen.

Foto-Druck
Chemoprint oHG.
Gießen